

ESTUDIO CITOQUIMICO DE LOS ELEMENTOS FIGURADOS
DE LA SANGRE DEL NEMERTINO
LINEUS LACTEUS MONTAGU (HETERONEMERTEA).

por

JEAN-CLAUDE DESSELLE*, GUY VERNET* y HUMBERTO J.A. MORETTO**

RESUMEN

En los elementos figurados de la sangre de la laguna sanguínea anterior de *Lineus lacteus* se investigaron: lípidos, glicógeno, peroxidasas, y fosfatasas ácidas y alcalinas.

ABSTRACT

Lipids, glycogen, peroxidases, acid and alkaline phosphatases were studied in the blood cells of the *Lineus lacteus* anterior blood lacuna. These products are largely confined to granulocytes and macrophages.

Los trabajos sobre los elementos figurados de la sangre de los nemertinos, publicados hasta hace unos cuarenta años, son antiguos (3) (6) (9) o no precisos (16) (17) (18). Con el objeto de la actualización de esos estudios, recientemente Vernet (23) y Vernet y Gontcharoff (20) (21) (22) (24) ensayaron diversas técnicas para el estudio de los hemocitos de los nemertinos, limitándose a especies del género *Lineus*, que es uno de los más comúnmente encontrado en el litoral de todos los mares (13) (14) (15). Los resultados experimentales que obtuvieron les han permitido describir en detalle los glóbulos rojos y su maduración, así como los cinco tipos de glóbulos blancos presentes en el líquido circulatorio de *Lineus lacteus*.

En el presente trabajo, expondremos nuestros resultados de un estudio citoquímico de los corpúsculos sanguíneos de *Lineus lacteus*, respecto a la presencia en ellos de lípidos, glicógeno, peroxidasas, y fosfatasas ácidas y alcalinas.

* Doctores J.C. Desselle y G. Vernet
Université de REIMS, Faculté des Sciences Laboratoire de Biologie Cellulaire. Moulin de la Housse,
B.P. 347 51062 REIMS Cedex Francia.

** Profesor Doctor Humberto J.A. Moretto. Cátedra de Invertebrados I. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. Miembro de la Carrera del Investigador Científico del CONICET.

MATERIAL Y METODOS

Los especímenes utilizados de *Lineus lacteus* nos habían sido remitidos por la Estación Biológica de Banyuls-sur-Mer (Francia). Los animales empleados en los ensayos lo fueron poco tiempo después de su llegada a nuestro laboratorio, a fin de que sus estados fisiológicos fueran los mejores posibles. De entre ellos seleccionamos los aparentemente sanos y con dimensiones corporales similares (10-12 cm de longitud). Sobre lotes de una veintena de individuos, realizamos las investigaciones citoquímicas siguientes:

- 1) Detección de lípidos por la "coloración" con el Negro Sudan B, según Scheehan y Storey (19).
- 2) Detección de glicógeno por la reacción del ácido peryódico-Schiff (APS), según MacManus (11).
- 3) Detección de peroxidasas por el método de Jacobs (7).
- 4) Detección de fosfatasas ácidas por el método de Kaplow y Burstone (8).
- 5) Detección de fosfatasas alcalinas por el método de Ackerman (1).

RESULTADOS

El examen al microscopio fotónico de cortes histológicos coloreados con May-Grunwald-Giemsa, permite localizar en la laguna sanguínea anterior, por delante de los ganglios cerebroides, diversos tipos de elementos figurados en el líquido circulante, observándose eritrocitos, linfocitos, granulocitos y macrófagos (21).

La totalidad de nuestras observaciones respecto al estudio citoquímico de estos elementos figurados sanguíneos, están resumidas en el Cuadro N° 1. En éste se indica que:

- los lípidos se presentan en los granulocitos y los macrófagos, bajo la forma de un precipitado negruzco. No se los detecta ni en los eritrocitos ni en los linfocitos;
- gránulos de color rojo brillante dicen de la presencia de glicógeno en los granulocitos y los macrófagos quienes se muestran muy reactivos, mientras que ni los eritrocitos ni los linfocitos reaccionan al APS;
- en el citoplasma de los eritrocitos, de los granulocitos y de los macrófagos es observable una actividad peroxidásica intensa manifestada por un precipitado amarillo-pardo. Los linfocitos no poseen esta característica;
- se encuentran fosfatasas ácidas en el citoplasma de los granulocitos y los macrófagos. El método de Kaplow y Burstone permite localizarlas bajo la forma de gránulos azulados. Estos no aparecen ni en los eritrocitos ni en los linfocitos;
- un precipitado azulado pálido señala la existencia de fosfatasas alcalinas en el citoplasma de los granulocitos y de los macrófagos. Este precipitado no se observó en los eritrocitos y los linfocitos.

DISCUSION

La actividad peroxidásica ligada a los eritrocitos de *Lineus lacteus* está de acuerdo con observaciones realizadas por otro autor en *Lineus fuscoviridis* (16). Si bien el rol fisiológico de esta actividad peroxidásica no ha sido todavía dilucidado de una manera clara, se puede pensar que al nivel del glóbulo rojo ella esté relacionada con la presencia de hemoglobina, puesto que desde hace tiempo se sabe que la hemoglobina actúa como una peroxidasa (10). En este caso la actividad peroxidásica estaría en relación con la respiración.

La distribución de fosfatasa ácidas y alcalinas en los granulocitos y de fosfatasa ácidas en los macrófagos de *Lineus lacteus* es de la misma naturaleza que la constatada en ciertos vertebrados incluido el Hombre (2) (4) (5). Esta coincidencia de características habla en favor de una convergencia de funciones, en particular para los macrófagos (12).

La presencia de lípidos y glicógeno en el citoplasma de varios tipos de células sanguíneas de *Lineus lacteus* es, a nuestro conocimiento, informado por primera vez en los nemertinos.

CUADRO N° 1
RESULTADOS DEL ESTUDIO CITOQUIMICO DE LOS
ELEMENTOS FIGURADOS DE LA SANGRE DE *LINEUS LACTEUS*.

Hemocitos Detección de	Eritrocito	Linfocito	Granulocito	Macrófago
Lípidos	—	—	+	+
Glicógeno	—	—	++	++
Peroxidasas	++	—	++	++
Fosfatasa ácidos	—	—	+	+
Fosfatasa alcalinas	—	—	+	+

BIBLIOGRAFIA

- 1 Ackerman, G.A., 1962. *Substituted naphthol AS phosphate derivatives for the localization of leucocyte alkaline phosphatase activity*. Lab. invest., 11: 563.
- 2 Bessis, M.C., 1972. *Cellules du sang*, p. 434, Masson, edit. Paris.
- 3 Burger, O., 1895. *Fauna und Flora des Golfes von Neapel*, 22: 743.
- 4 Carr, I., 1973. *The macrophage*. Acad. Press edit. Londres, New-Hork.
- 5 Caxton-Martins, A.E., 1978. *Cytochemistry of blood cells in two west African amphibians*. - J. Anat., 125: 231-235.
- 6 Hubrecht, A.A.W., 1874. *Gefäßsystem und Blut*. Niederl. Arch. Zool., 2: 119-129.
- 7 Jacobs, A., 1958. *Staining for leucocyte peroxidase*. Lancet, 1: 697.
- 8 Kaplow, L.S. y M.S. Burstone, 1964. *Cytochemical demonstration of acid phosphatase in haematopoietic cells in Health and in various haematological disorders using azo-dye techniques*. J. Histochem. Cytochem., 12: 805.
- 9 Lankaster, E.R., 1872. *A contribution to the knowledge of haemoglobin*. Proc. Roy. Soc. London, 140: 70.

- 10 Lison, L., 1960. *Histochimie et Cytochimie animales*. Gauthier-Villars, edit. Paris, Vol. II, : 549.
- 11 MacManus, J.F.A., 1946. *Oxidation of mucin with periodic-acid producing the capacity of stain with Schiff's reagent*. Nature, 158, : 202.
- 12 Manning, M.J. y R.J. Turner, 1976. *Comparative immunology*. Blakie edit. Glasgow et Londres, : 10.
- 13 Moretto, H.J.A., 1971. *Un heteronemertino de la costa atlántica bonaerense*. Neotropica, 17, (52), : 5-11.
- 14 Moretto, H.J.A., 1974. *Sobre el Lineus bonaerensis Moretto, 1971*. Neotropica, 20, (62), : 97-103.
- 15 Moretto, H.J.A., G. Vernet y M. Gontcharoff, 1976. *Aspects anatomo-histologiques de quelques Lineidae*. Bull. Soc. Zool. France 101, (2), : 221-230.
- 16 Ohuye, T., 1942. *On the blood corpuscles and the hemopoiesis of a nemertean Lineus fuscoviridis, and of a stipunculus Dendrostoma minor*. Sci. Repets. Tohoku Imper. Univ., (4), (Biol.), 17, :187-196.
- 17 Prenant, M., 1922. *Recherches sur le parenchyme des Plathelminthes. Essai d'histologie comparée*. Arch. Morph. Gen. Exp., 5, : 90.
- 18 Riepen, O., 1933. *Anatomie und Histologie von Malacobdella grossa (Müll.)* Z.f. wiss. Zool., 143, : 324-496.
- 19 Sheehan, H.L. y G.W. Storey, 1947. *An improved method of staining leucocyt granules with Sudan black B*. J. Path. Bact., 59, : 336-337.
- 20 Vernet, G. y M. Gontcharoff, 1975. *Etude autoradiographique de l'incorporation de l'acide deltamino-lévolulinique^{3H} et du ⁵⁵Fe dans les éléments figurés du sang de Lineus lacteus Montagu (Hétéronémerte)*. C.R. Acad. Sci. Paris Série D, 280, : 1413-1415.
- 21 Vernet, G. y M. Gontcharoff, 1976. *Cytological study of the blood corpuscles of Lineus lacteus (Rhynchocoela, Lineidae)*. Cytobios, 17, : 137-140.
- 22 Vernet, G. y M. Gontcharoff, 1977. *Sur l'existence de macrophages chez Lineus lacteus Montagu (Hétéronémerte)* C.R. Acad. Sci. Paris Série D, 285, : 187-188.
- 23 Vernet, G., 1979. *Fine structure of the nemertean worm Lineus lacteus red blood corpuscles*. Cytobios, 24:43-46.
- 24 Vernet, G. y M. Gontcharoff, 1980. *Etude de la maturation de la lignée des globules rouges du sang du Némertien Lineus lacteus Montagu (Hétéronémerte)*. C.R.A. Acad. Sci. Paris, Série D, 290: 473-476.